

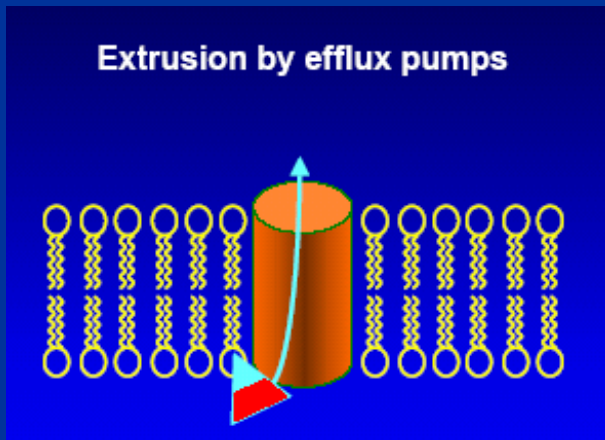
Activité des Quinolones
vis-à-vis des formes
extracellulaires et intracellulaires
de *Listeria monocytogenes* :
modulation par les pompes à efflux
bactériennes et eucaryotes.

Ann Lismond,

Unité de Pharmacologie cellulaire et
moléculaire

Les pompes à efflux

- Protéines transmembranaires capables d'expulser des molécules diffusibles



- mécanisme ubiquitaire de protection contre les substances étrangères (médicaments)
 - Bactéries
 - Eucaryotes
- faible spécificité de substrat (substrats amphiphiles)

Rôles des pompes à efflux en pharmacologie anti-infectieuse

■ Dans les cellules bactériennes:

Mécanisme de résistance aux AB



Cibles intrabactériennes:

- ribosomes
- enzymes

Activité AB dépend de la capacité à rejoindre sa cible

→ Pompes à efflux

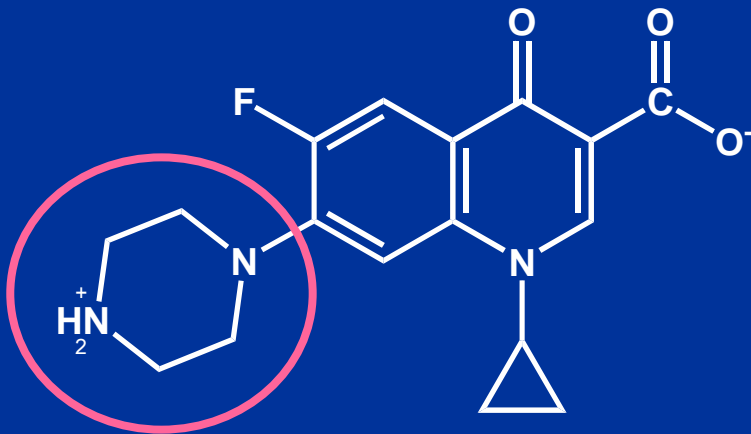
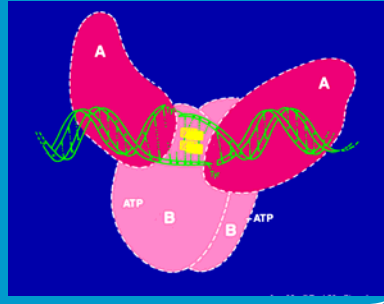
↘ concentration intrabactérienne

↘ activité AB

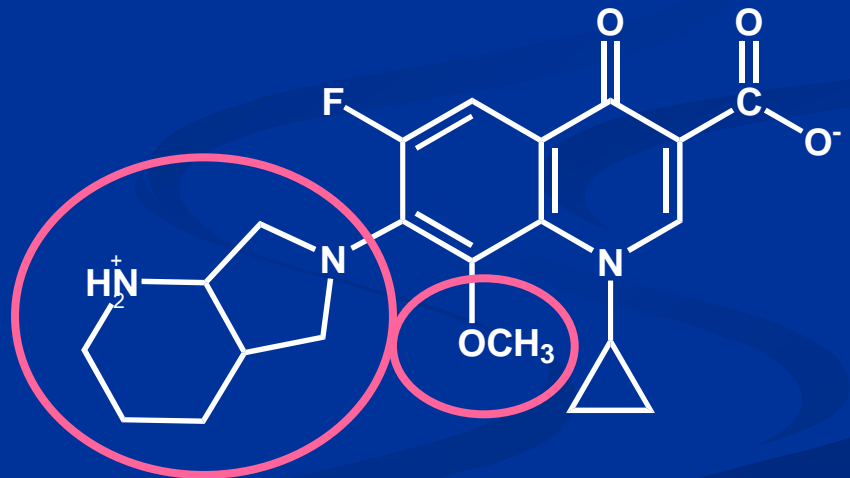
→ mécanisme de résistance

Fluoroquinolones

ADN gyrase
Topoisomérase IV

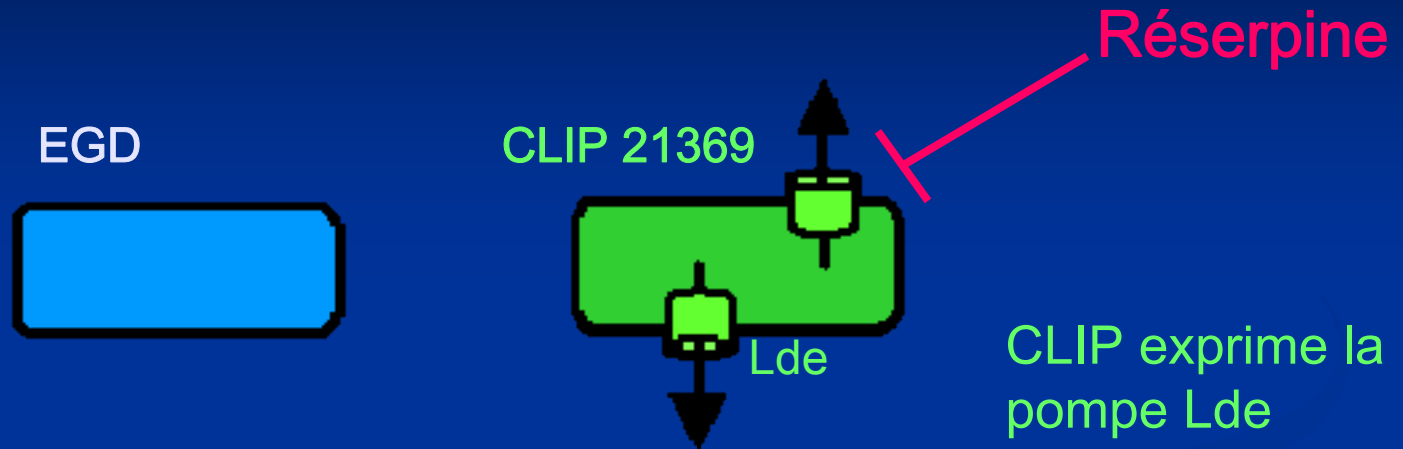


Ciprofloxacin



Moxifloxacin

Listeria monocytogenes



CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

	CIP	CIP + R
EGD	0.5-1	0.50-0.75
CLIP	8-16	0.75-1

Listeria monocytogenes est un pathogène intracellulaire!



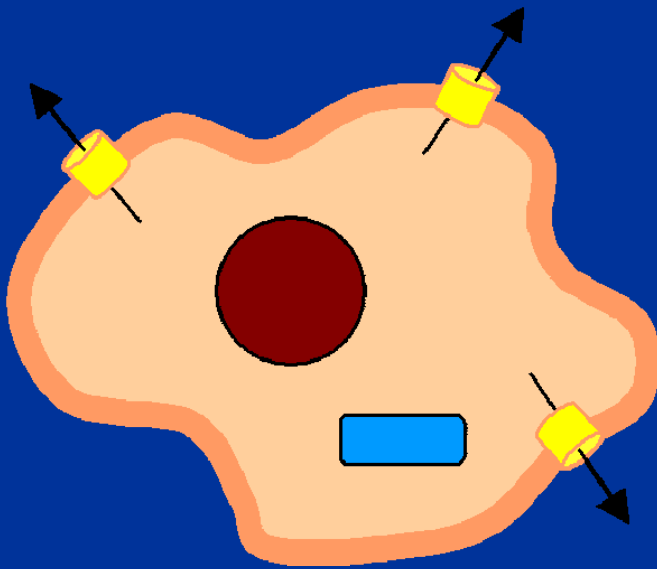
Rôles des pompes à efflux en pharmacologie anti-infectieuse

■ Dans les cellules eucaryotes:

Modulation de la pharmacocinétique (accumulation)

Activité AB dépend de la capacité à rejoindre sa cible:

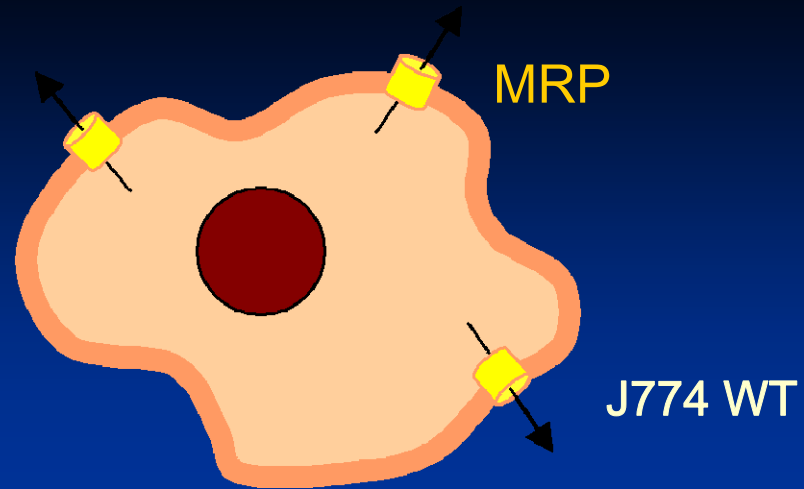
→ Pour une bactérie intracellulaire, importance de la capacité à pénétrer et s'accumuler dans la cellule eucaryote



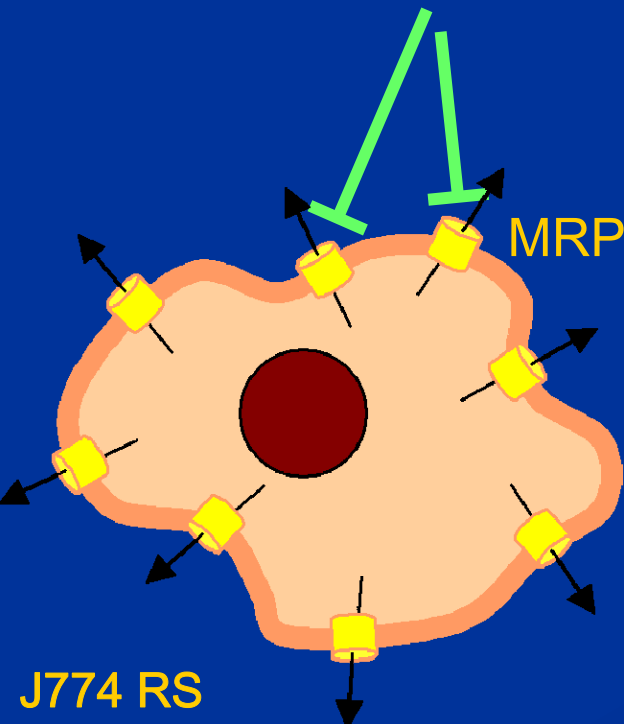
→ Pompes à efflux

- ↘ accumulation intracellulaire
- ↘ concentration AB susceptible de rejoindre la cible bactérienne

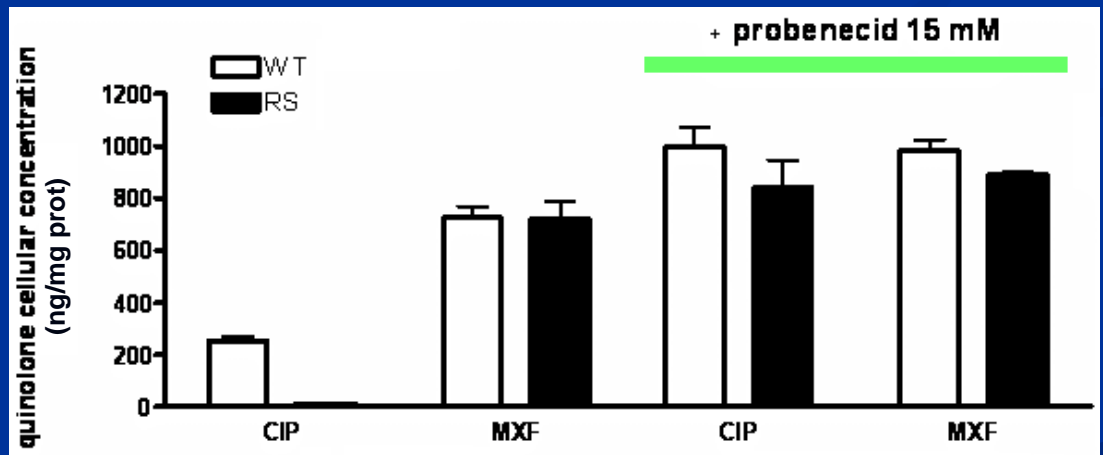
Macrophages J774 sauvages expriment la pompe MRP à un niveau basal !



Probénécide



Accumulation cellulaire de CIP



Michot *et al.*, AAC 2006

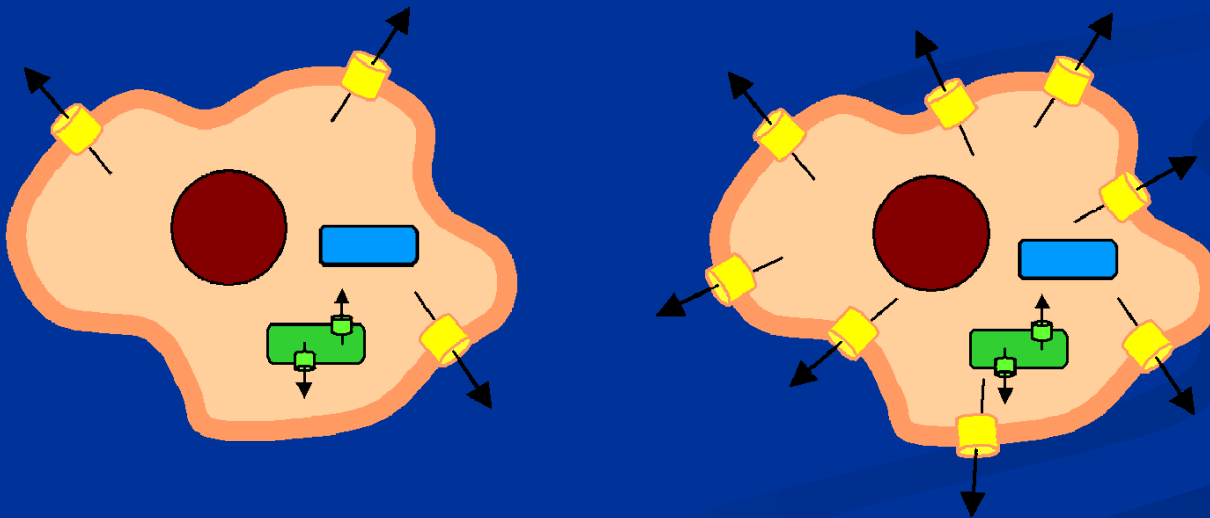
Macrophages J774 résistants surexpriment la pompe MRP

Objectifs

- Influence de la pompe bactérienne sur l'activité des fluoroquinolones



- Coopération pompe bactérienne – pompe eucaryote



→ Comparaison de l'activité de CIP / MXF

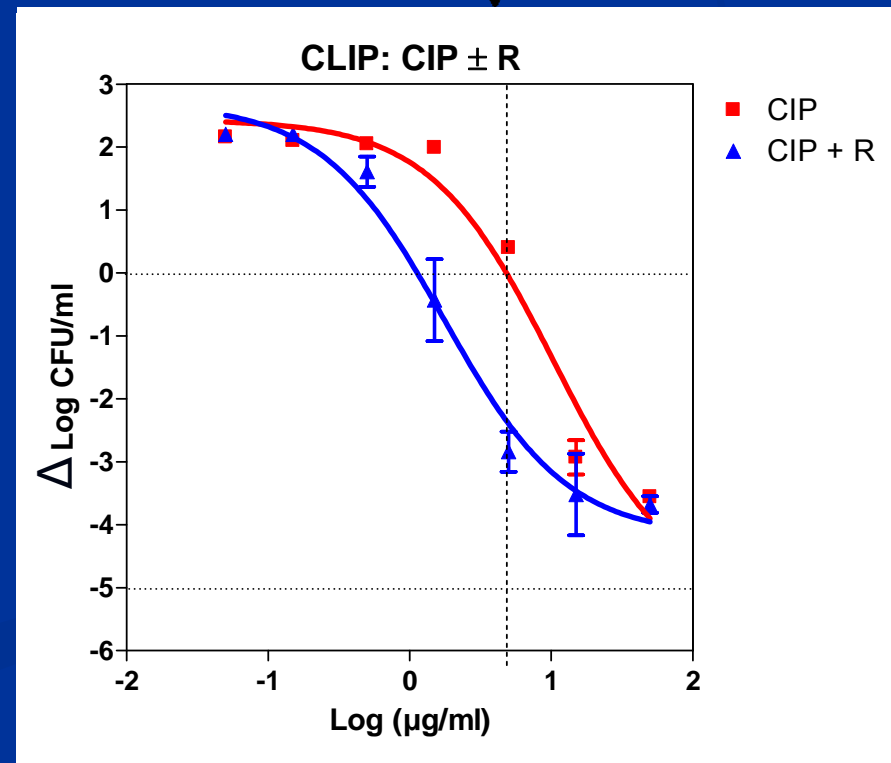
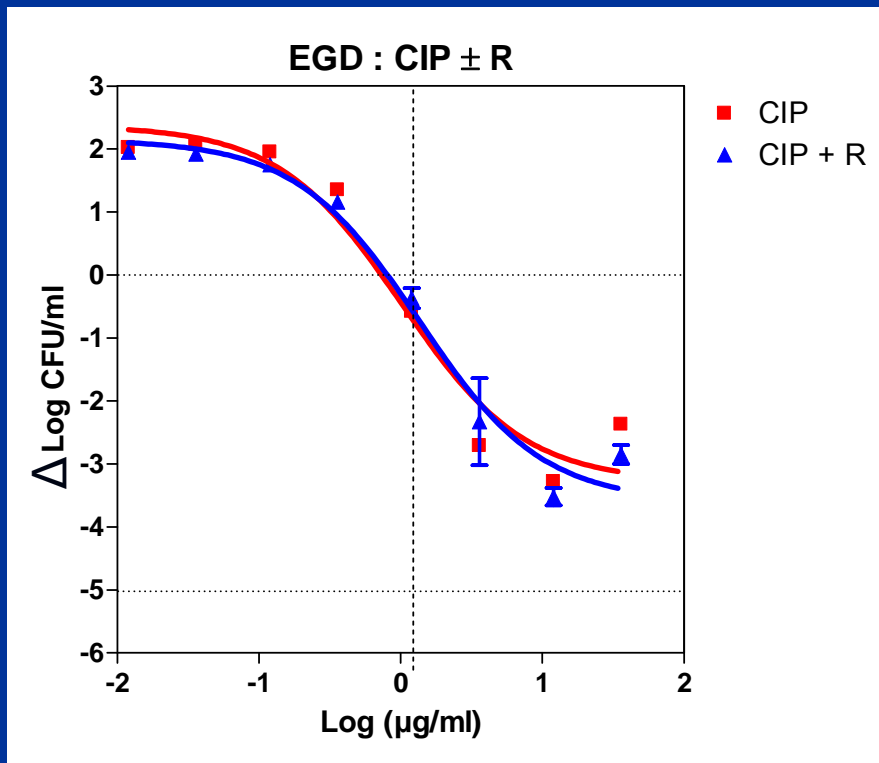
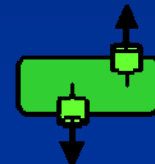
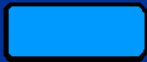
I. Influence de la pompe Lde (*L. monocytogenes* extracellulaire)

a) Mesure des CMI:

<u>AB</u>	<u>L.m.</u>	<u>Réserpine</u> (-)	<u>Réserpine</u> (+)
CIP	EGD	1,2	1,2
	CLIP	5	1
MXF	EGD	0,6	0,6
	CLIP	0,5	0,3

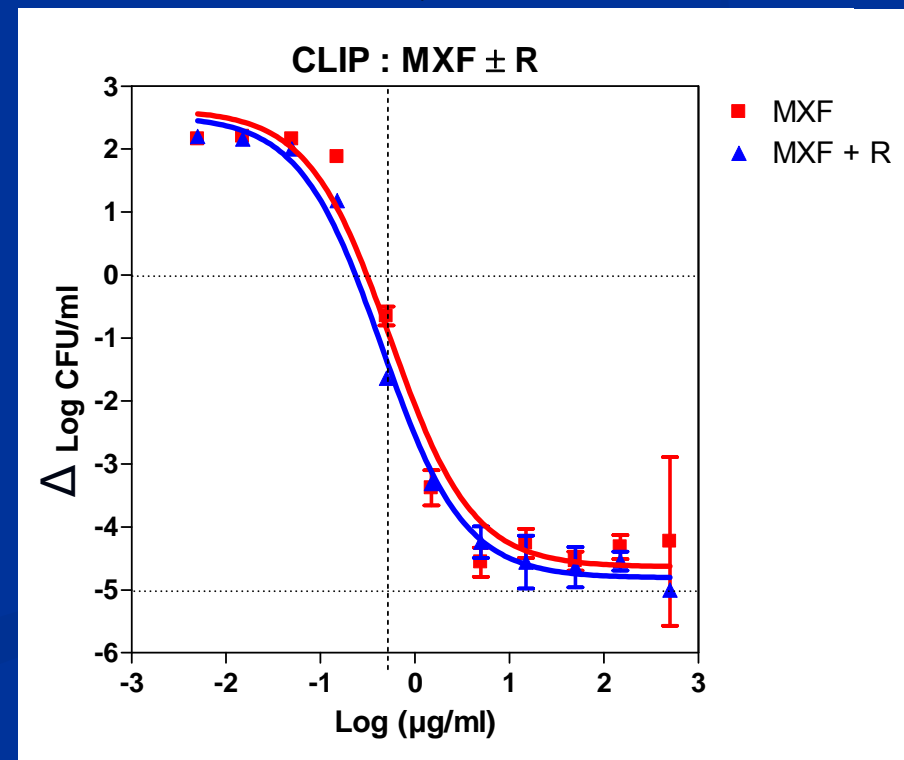
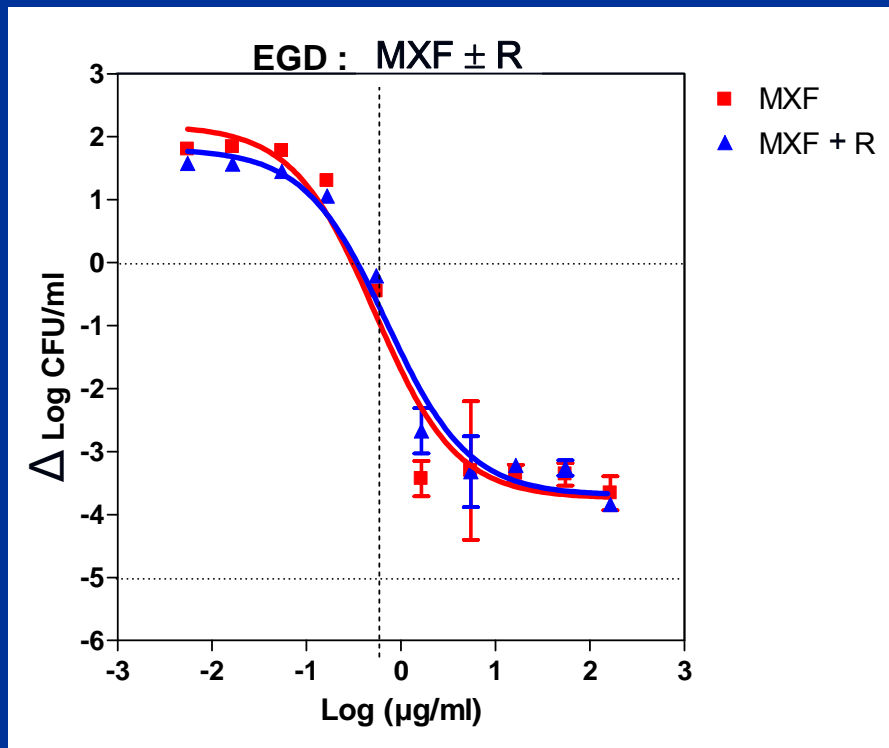
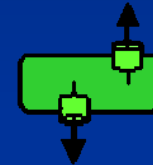
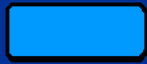
I. Influence de la pompe Lde (*L. monocytogenes* extracellulaire)

c) Courbes dose-effet (CIP):



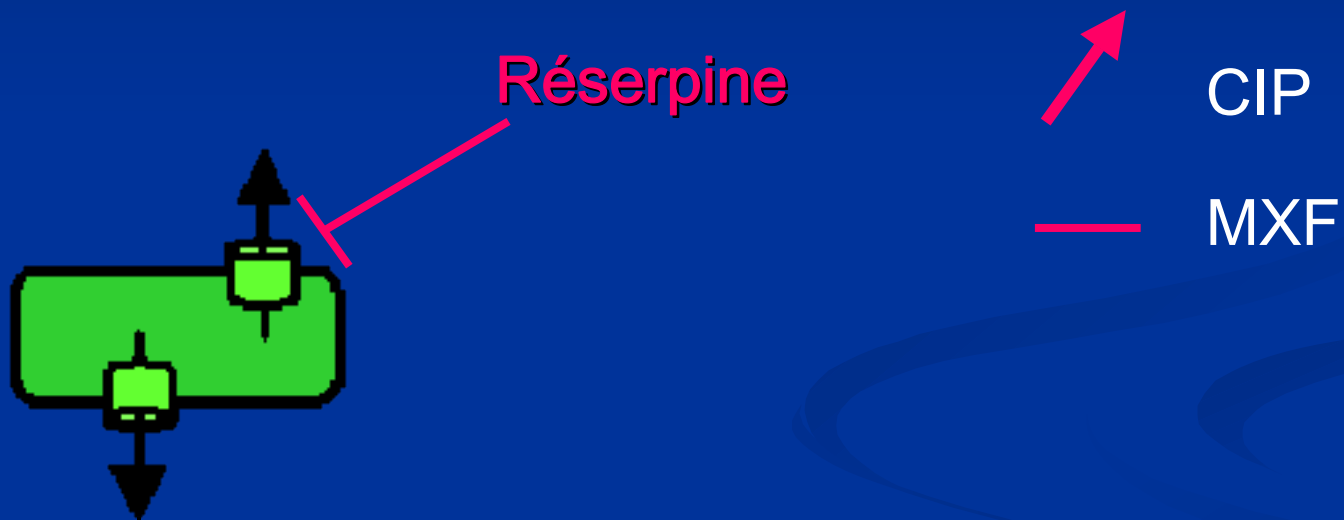
I. Influence de la pompe Lde (*L. monocytogenes* extracellulaire)

c) Courbes dose-effet (MXF):



Conclusions 1 : activité extracellulaire

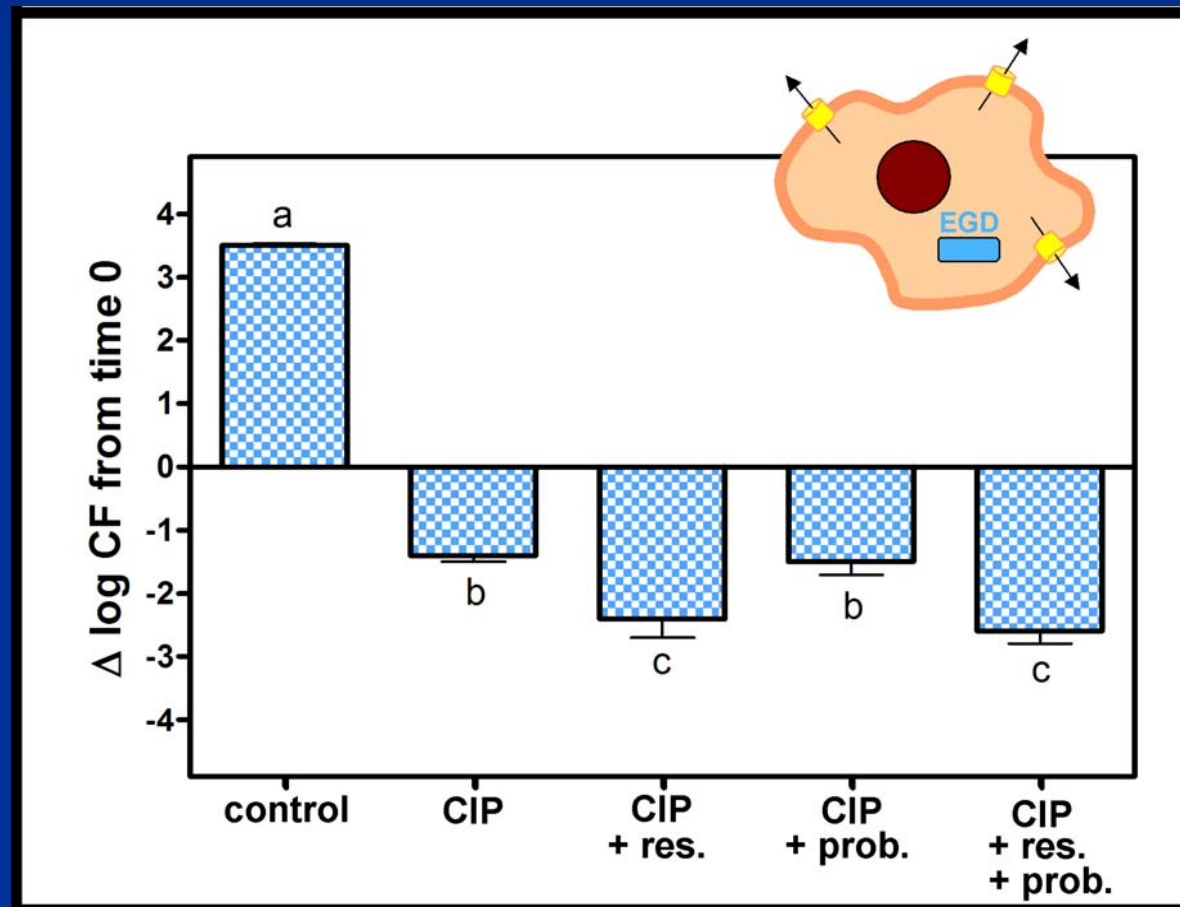
- Souche CLIP:



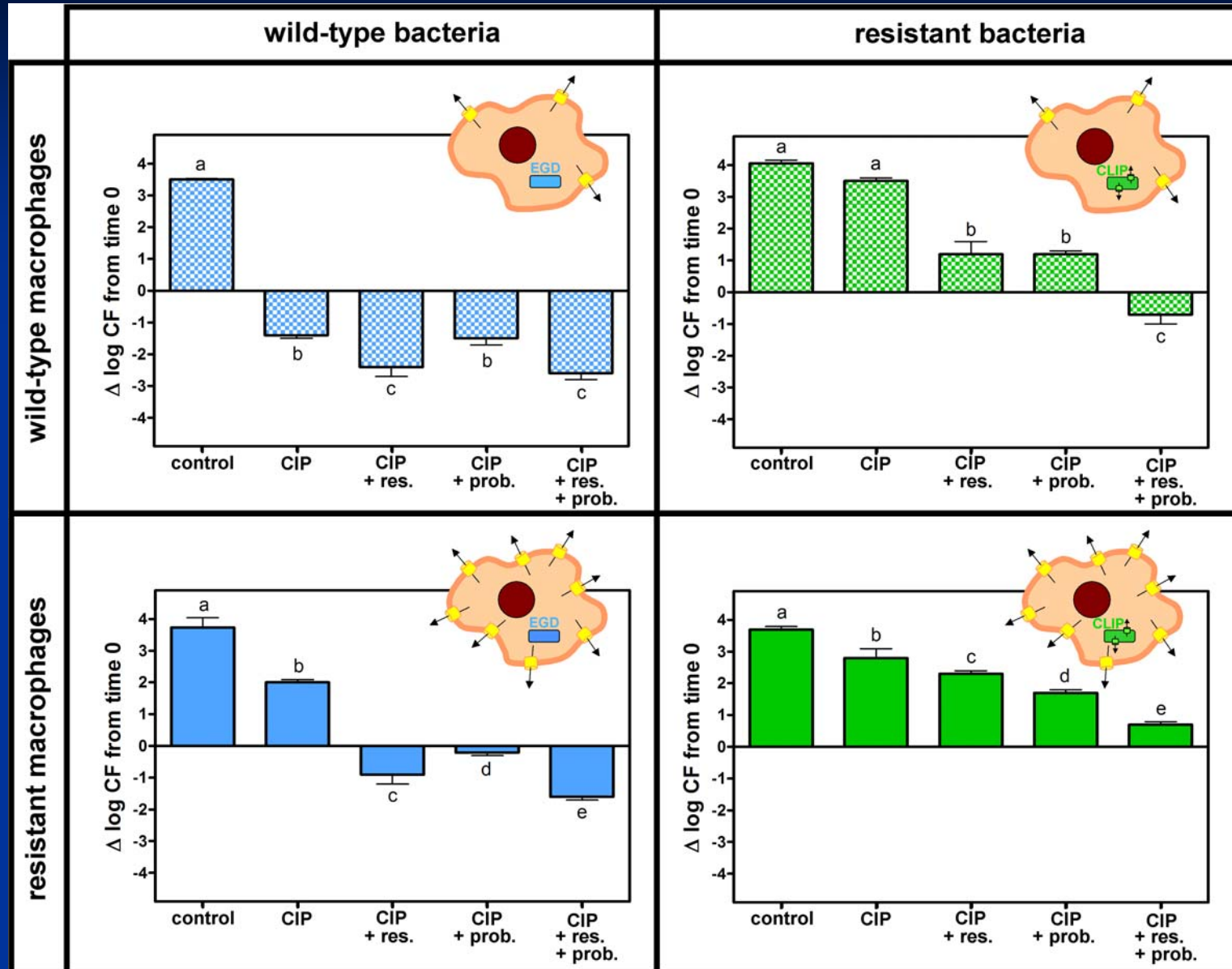
→ pompe Lde
= résistance à CIP !

II. Influence des pompes Lde et MRP (*L. monocytogenes* intracellulaire)

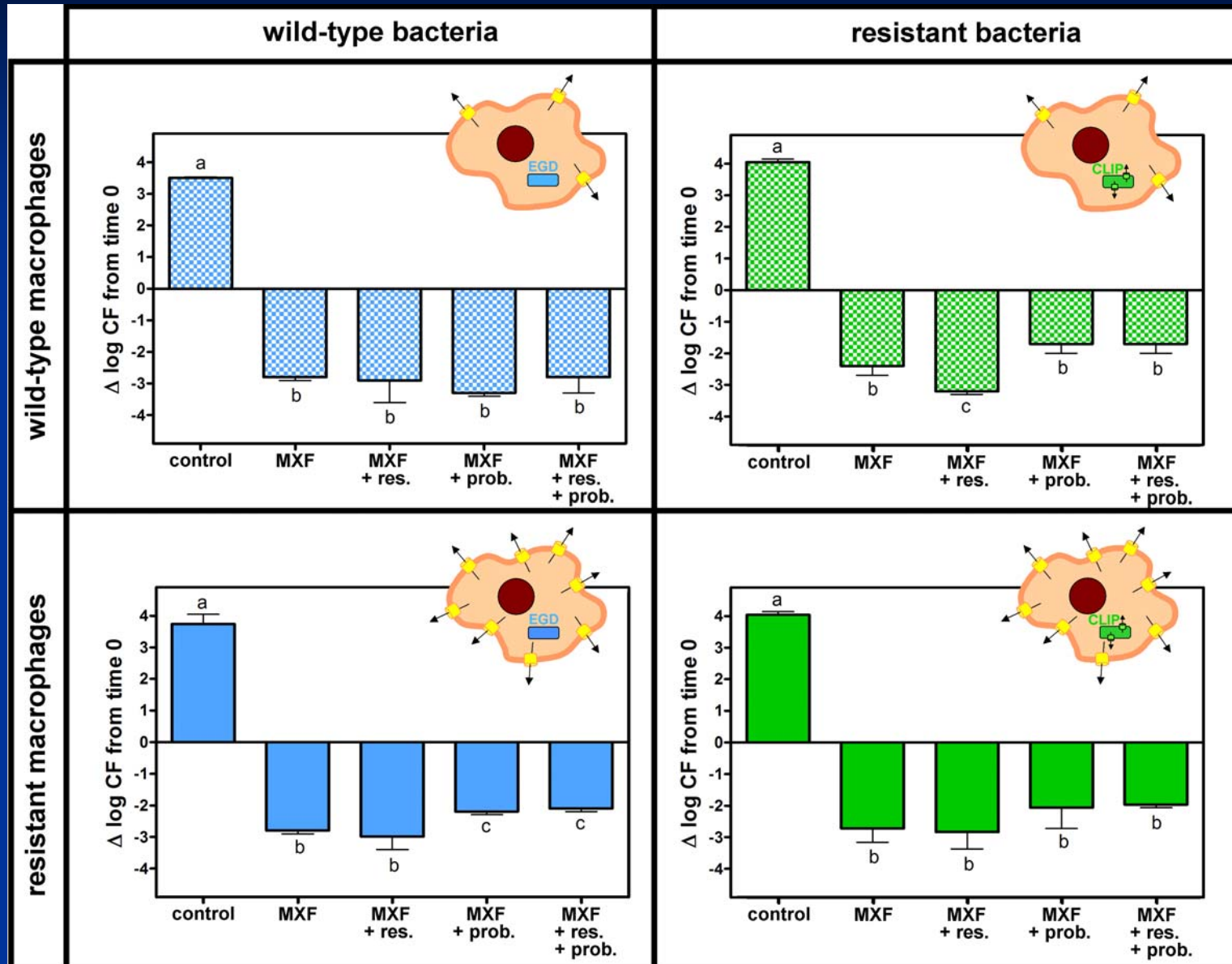
CIP: conc = C_{max} = 4,3 $\mu\text{g/ml}$; 24 h



CIP: conc = Cmax = 4,3 µg/ml; 24 h

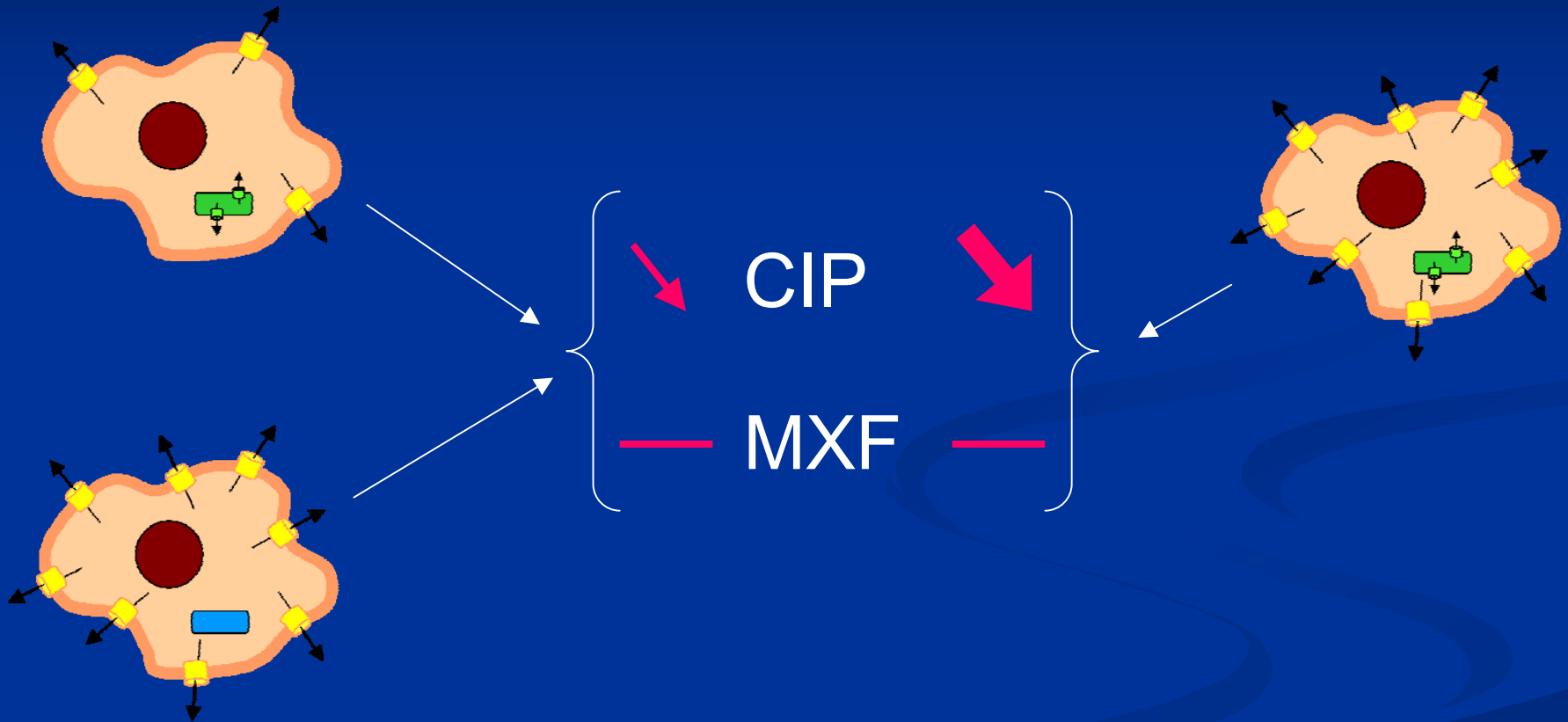


MXF: conc = Cmax = 4 µg/ml; 24 h



Conclusions 2 : activité intracellulaire

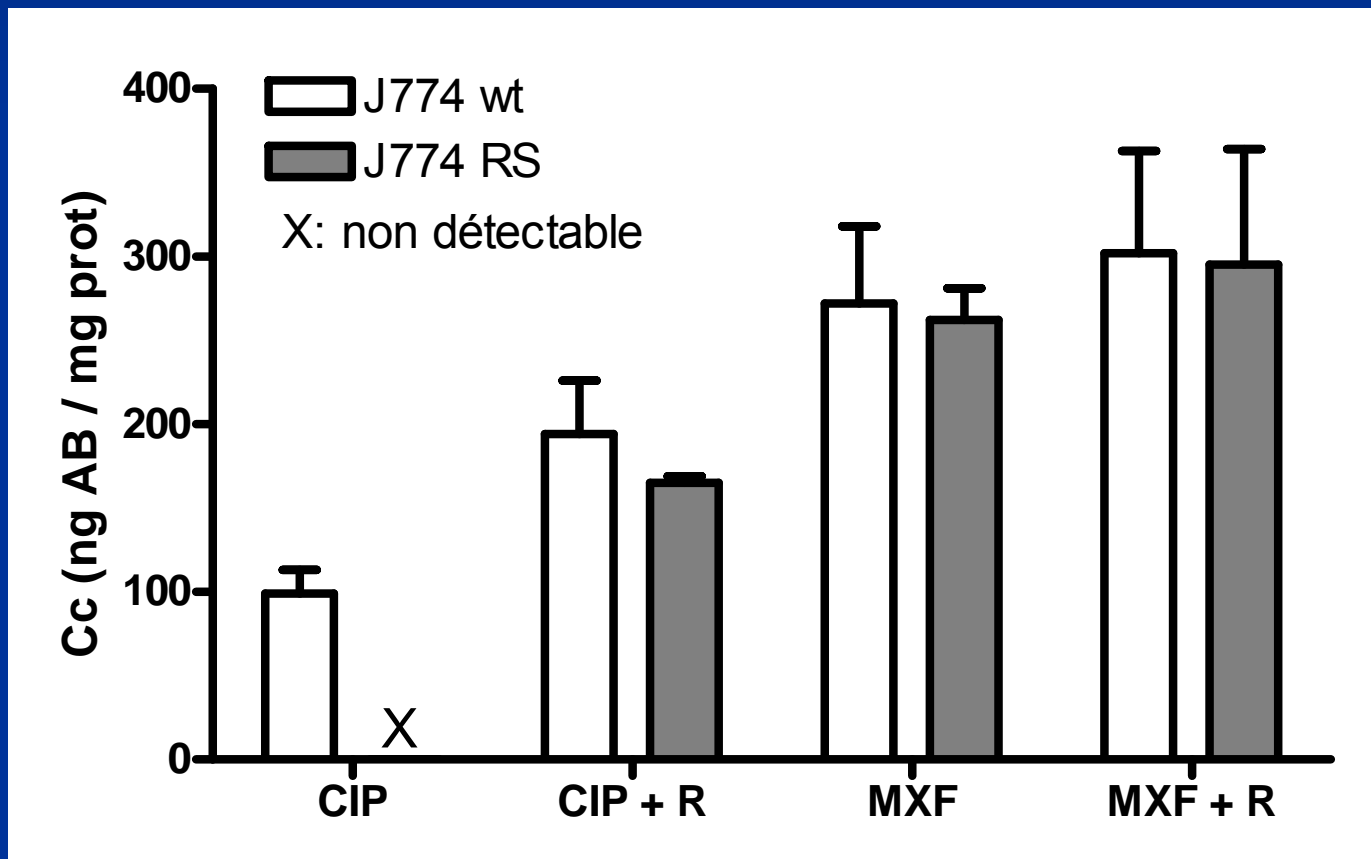
- Influence des pompes sur l'activité des 2 FQ:



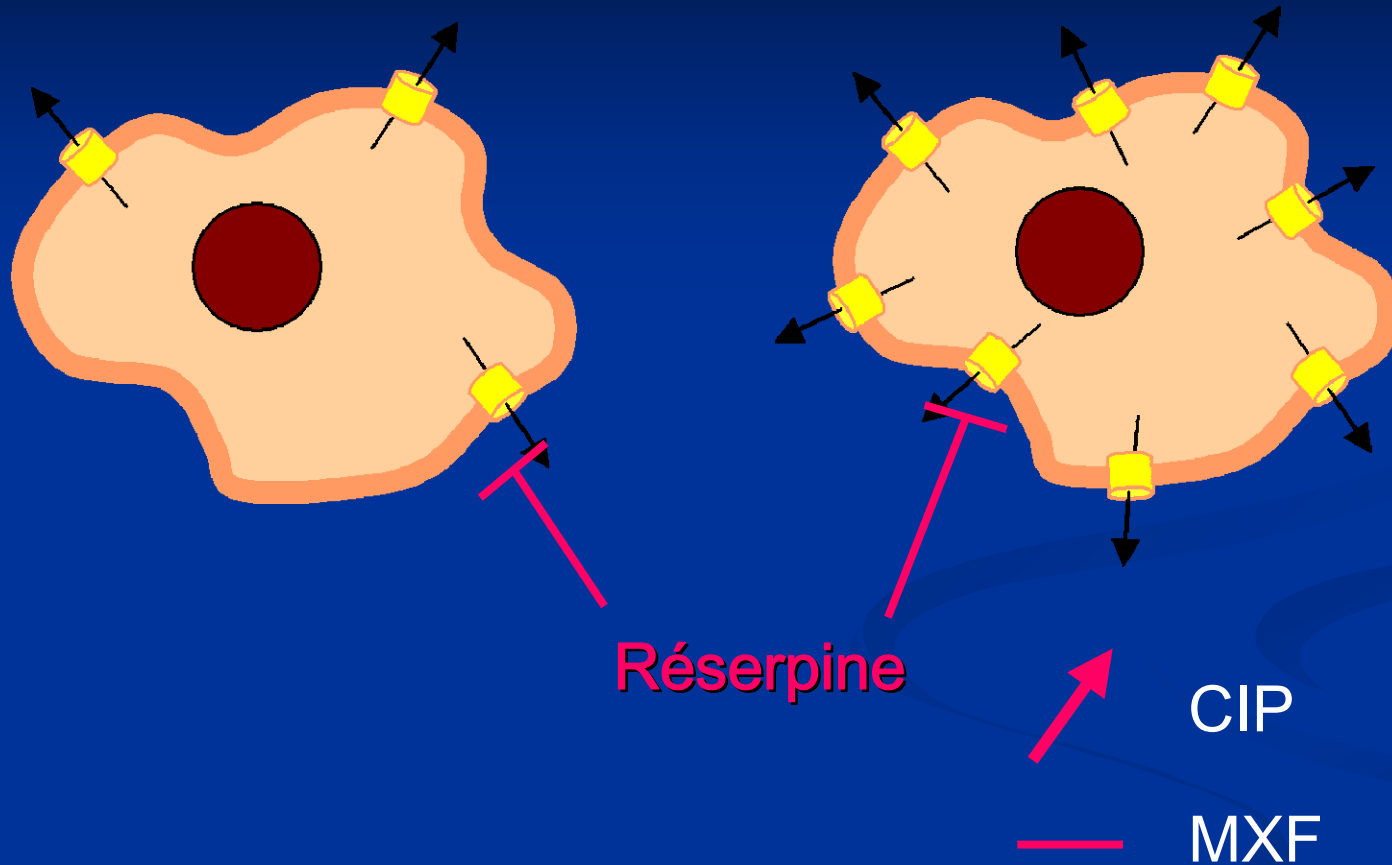
- Résérpine inhiberait MRP?

III. Influence de la pompe MRP (macrophages J774)

■ Accumulation:



Conclusions 3 : accumulation cellulaire



Résérpine inhiberait la pompe MRP !

Discussion

- **Impact de la résistance par efflux en thérapie**

CLIP-CIP: $CMI > C_{max}$, mais + Réserpine $\rightarrow CMI < C_{max}$

\rightarrow Intérêt de développer des inhibiteurs de pompes

- **Coopération entre les pompes bactériennes et eucaryotes pour réduire l'activité AB**

\rightarrow Important à prendre en compte en antibiothérapie d'infection intracellulaire

- **Comparaison CIP/MXF révèle que des différences mineures de structure affectent considérablement la reconnaissance par les pompes**

même AB substrat des pompes bactériennes et eucaryotes

\rightarrow mêmes déterminants moléculaires importants dans la reconnaissance ?

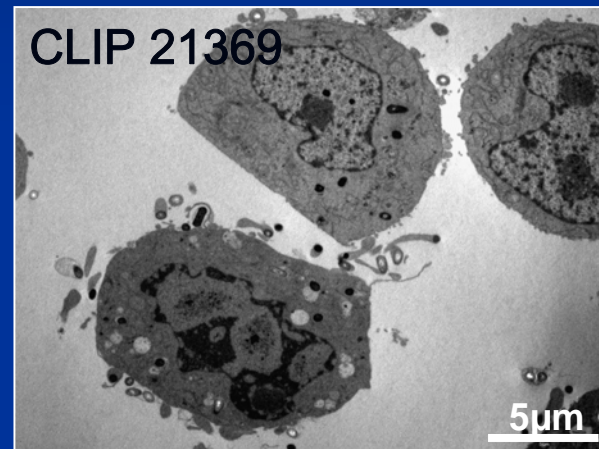
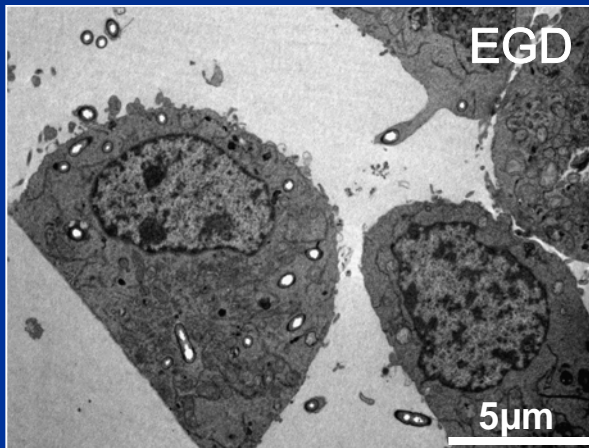
 **Choix de la molécule est déterminant!**

Perspectives

- Accumulation FQ
 - ┌ dans les bactéries
 - └ dans les macrophages (et R?)
- Expression de la pompe bactérienne (\pm CIP)
 - ┌ en extracellulaire
 - └ en intracellulaire
- Courbes dose-effet en intracellulaire: activité des 2 FQ
- Tester d'autres AB: reconnaissance par MRP?

Perspectives (2)

- Pathogénicité de la souche CLIP



- Relation structure / activité en séries homogènes

Merci pour votre attention !

Les fluoroquinolones : traitement alternatif des Listerioses?

